10.22092/spij.2019.120344

مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۵، شماره ۱، سال ۱۳۹۸

ارزیابی مقاومت نسبی برخی ارقام تجاری و ژنوتیپ‌های امیدبخش گردو به شانکر پوستی سطحی (*Brenneria nigrifluens*)

Evaluation of Relative Resistance of Some Walnut Commercial Cultivars and Promising Genotypes to Shallow Bark Canker (*Brenneria nigrifluens*)

نسیم سلیمانی[۱]، منصوره کشاورز[۲]، نادر حسن‌زاده[۳]، داراب حسنی[۲] و اصغر سلیمانی[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲- دانشیار، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
۳- استاد، دانشکده کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۴- کارشناس، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۱۰

چکیده

سلیمانی، ن.، کشاورزی، م.، حسن‌زاده، ن.، حسنی، د. و سلیمانی، ا. ۱۳۹۸. ارزیابی مقاومت نسبی برخی ارقام تجاری و ژنوتیپ‌های امیدبخش گردو به شانکر پوستی سطحی (*Brenneria nigrifluens*). **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۵: ۱۲۰- ۱۰۹.**

شانکر پوستی سطحی با عامل باکتریایی *Brenneria nigrifluens* از بیماری‌های مهم گردو است که باعث کاهش عملکرد و کیفیت چوب، زوال تدریجی و مرگ درخت می‌شود. در این تحقیق مقاومت نسبی چهار ژنوتیپ امیدبخش بومی گردو H2-12، H2-1، 88-1، KZ3، یک رقم داخلی جمال و هشت رقم تجاری خارجی لارا (Lara)، سر (Serr)، پدرو (Pedro)، وینا (Vina)، شینوا (Shinova)، چندلر (Chandler)، روند (RDM) و شاهد حساس هارتلی (Hartley) به این بیماری و ارتباط آن با اندام مایه‌زنی شده مطالعه شد. نمونه‌های بیماری از استان کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری و سویه‌های باکتری عامل جداسازی و توسط آزمون‌های فنوتیپیک رایج شناسایی شدند. مخلوط چهار سویه منتخب به‌عنوان مایه تلقیح بکار برده شد. ارقام و ژنوتیپ‌ها در زمستان ۱۳۹۱ پیوند و شاخه و تنه آن‌ها در بهار سال ۱۳۹۴ در شرایط باغی مایه‌زنی شده و طول شانکر ۱۸ ماه بعد در زمستان ۱۳۹۵ اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که باکتری عامل شانکر گونه *B. nigrifluens* بود. طول شانکر در ارقام و ژنوتیپ‌های گردو متفاوت بود. بر این اساس، ارقام هارتلی و شینوا با میانگین طول شانکر به ترتیب چهار و ۱/۷۵ سانتی‌متر حساس‌ترین و مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌ها شناسایی شدند. هیچ‌کدام از ژنوتیپ‌های گردو کاملاً مقاوم نبود. هر دو اندام شاخه و تنه حساسیت نشان دادند اما تنه با میانگین طول شانکر ۲/۹۱ سانتی‌متر حساس‌تر از شاخه با میانگین ۱/۹۰ سانتی‌متر ارزیابی شد. بین قطر اندام و طول شانکر همبستگی مثبت معنی‌داری ($r = ۰/۵۶^{**}$) دیده شد. نتایج این پژوهش نشان‌دهنده تفاوت در سطح مقاومت ارقام و ژنوتیپ‌های بررسی شده در این پژوهش به بیماری شانکر پوستی سطحی بود و با توجه به تاثیر بسزای تنش آبی بر شدت این بیماری و شرایط خشکسالی حاکم بر کشور، شناسایی و کاشت ارقام با مقاومت نسبی بیشتر می‌تواند در کاهش میزان خسارت اقتصادی آن موثر باشد.

واژه‌های کلیدی: گردو، مایه تلقیح، طول شانکر، شاخه، تنه.

نگارنده مسئول: kmansoureh@gmail.com تلفن: ۰۲۶۳۶۷۰۲۵۴۱

مقدمه

درخت گردو متعلق به خانواده Juglandaceae و جنس *Juglans* است. این جنس دارای ۲۱ گونه است که از آن میان، گردوی ایرانی (*J. regia*) از نظر خوراکی و چوب و سایر گونه‌ها بیشتر به‌خاطر چوب و گاهی میوه اهمیت دارند (Tabatabaee *et al*., 1998; Jalili Marandi and Hakimi Rezaee, 2003) ایران پس از چین، آمریکا و ترکیه در مقام چهارم از نظر سطح زیر کشت و مقام دوم تولید گردو قرار دارد (Anonymous, 2012). کشت درخت گردو در ۲۶ استان ایران انجام می شود و بیشترین سطح زیر کشت متعلق به استان‌های کرمان، کرمانشاه، همدان، چهار محال بختیاری، سیستان و بلوچستان و خوزستان است. گردو به-طور خودرو در جنگل‌های شمال و غرب کشور نیز یافت می‌شود (Anonymous, 2005).

بیماری باکتریایی شانکر سطحی پوست گردو با عامل *Brenneria nigrifluens* در برخی کشورهای مناطق معتدله و مرطوب جهان شایع است. این بیماری برای اولین بار در کالیفرنیا (Wilson *et al*., 1957) مشاهده شد و سپس از اسپانیا (López *et a.l*, 1994)، ایتالیا (Saccardi *et al*., 1998; Morone *et al*., 1998)، ایران (Rahimian, 1986) و فرانسه (Ménard *et al*., 2004) گزارش شد. اولین گزارش آن در ایران از استان مازندران (Rahimian, 1986) و سپس کرمان، فارس و کهگیلویه و بویراحمد (Yousefikopaei *et al*., 2004; Baradaran and Ghasemi, 2004) و کردستان (Harighi, 2006) بود.

بیماری شانکر سطحی موجب کاهش عملکرد و کیفیت چوب، زوال تدریجی و مرگ درختان بالغ و جوان در نهالستان و باغ می‌شود (Piccirillo, 2003; Moretti and Buonaurio, 2010; Saccardi *et al*., 1998) و به‌خصوص در صنایع چوب برخی کشورهای اروپایی اهمیت زیادی دارد. این بیماری در ایتالیا، در سال‌های ۱۹۹۴-۲۰۰۰ در بیش از۱۰۴هزار هکتار باغات جدید و قدیمی گردو طغیان و ۱۰ درصد درختان را آلوده کرد (Morone *et al*., 1998). شانکر سطحی در انگلستان موجب ریزش میوه و کاهش شدید عملکرد و بی‌کیفیتی چوب و مرگ درختان گردو شد (Anonymus, 2007; Piccirillo, 2003; Moretti *et al*., 2007). این بیماری در باغات گردوی کالیفرنیا نیز شایع می‌باشد، اما اهمیت اقتصادی آن بالا نیست (Frutos, 2010).

در ایران، خسارت بیماری شانکر سطحی در استان‌های کهگیلویه و بویراحمد و کرمان بالاست و موجب ضعف شدید، خشکی شاخه‌های جانبی و حتی مرگ درخت گردو می‌شود (Keshavarzi, 2013). نتایج مطالعات

بافت‌شناسی روی شانکر سطحی در استان کهگیلویه و بویراحمد نشان داد که کلیه بافت‌های درخت آلوده اعم از پوست، لایه زاینده و حتی چوب به‌شدت بافت مرده و چوب بی کیفیت می‌شود (Baradaran and Ghasemi, 2004). نشانه اصلی این بیماری شامل ایجاد شانکرهای متعدد، معمولاً گروهی، قهوه‌ای تا سیاه رنگ در پوست خارجی تنه یا شاخه اصلی است. از انتهای بهار تا پائیز از مرکز این لکه‌ها تراوشات سیاهرنگی به بیرون جاری می‌شود که بعداً خشک شده و موادی شبه قیر برجای می‌گذارد. با تراشیدن پوست سطحی شانکر، نشانه‌های بافت‌مردگی در بافت چوب زیرین آن دیده می‌شود. درختان آلوده ابتدا به‌صورت یک‌طرفه و سپس به‌طور کامل خشک می‌شوند (Saccardi *et al*., 1998; Piccirillo, 2003).

مطالعات اپیدمیولوژیک نشان می‌دهند که باکتری عامل، بخشی از میکروفلور طبیعی باغ است که در مواجهه با تنش‌های محیطی، بیماریزا می‌شود و در شرایط تنش‌های تغذیه‌ای و آبی شایع‌تر و شدیدتر است. بنابراین مؤثرترین راه کنترل آن، تقویت و آبیاری منظم درخت است. از دیگر راهکارهای مدیریتی، تراشیدن شانکرهای کوچک و سپس ضدعفونی محل‌های برش است، اما در شانکرهای بزرگ توصیه نمی‌شود زیرا موجب ضعف بیشتر درخت می‌شود (Keshavarzi, 2013). یکی دیگر از راهکارهای کنترل این بیماری کاربرد ارقام و پایه‌های مقاوم است. با توجه به وجود تفاوت در سطوح مقاومت ارقام و پایه‌های مختلف گردو به این بیماری، کاربرد ارقام مقاوم می‌تواند اقتصادی‌ترین، سالم‌ترین و پایدارترین روش کنترل بیماری باشد.

نتایج بررسی‌های باغی و نهالستانی نشان می‌دهد که اکثر ارقام تجاری از جمله فرنر (Ferner)، میلند (Meyland)، ماموت (Mamoth)، پاین (Payne)، میلترفورد (Myrtleford)، مایت (Mayette)، هارتلی (Hartley) و چندلر (Chandler) به این بیماری حساس بوده و تنها ارقام معدودی همچون لارا (Lara) و فرانکت (Franquette) حساسیت کمتری دارند (Ogawa and English, 1991; Ménard *et al*., 2004). سطح مقاومت در بین پایه‌های تجاری نیز متفاوت می‌باشد و هیبرید پارادوکس (Paradox) حساس‌تر از گردوی سیاه (*J.hindsii*) است (Ogawa and English, 1991).

هدف از این پژوهش بررسی سطح مقاومت نسبی تعدادی از ژنوتیپ‌های امیدبخش داخلی و برخی ارقام تجاری گردو به بیماری شانکر پوستی سطحی بود.

مواد و روش‌ها

چهار ژنوتیپ امیدبخش داخلی شامل KZ3, 88-1, H2-12, H2-1، رقم ایرانی جمال و هشت رقم تجاری خارجی لارا (Lara)، سر (Serr)، پدرو (Pedro)، وینا (Vina)، شینوا

(Shinova)، چنـدلر (Chandler) و رونـد (RDM) و رقـم هـارتلی (Hartley) بـه‌عنوان شاهد حساس، ارزیابی شدند. سه رقم هـارتلی، چندلر و پدرو از سازگارترین ارقام تجاری قابل توصـیه بـرای شـرایط اقلیمـی ایـران هستند (Hassani *et al.*, 2007). رقـم چنـدلر دارای عملکرد بالا و میوه درشت بـوده، زودرس و مقاوم بـه سـرمای زمستانه اسـت. رقـم هـارتلی دارای میوه‌های درشت با مغـزی سـفید و خـوش طعـم بـوده، پـیش رس اسـت و مـدت‌ها اولـین انتخاب تولیدکنندگان کالیفرنیایی بوده است امـا بـه سـرمای دیـررس بهـاره مقـاوم نیسـت. پـدرو رقمـی پـر محصـول امـا خیلـی زود گـل اسـت و برای کشت در مناطق سرما خیز مناسب نیست. بـا توجه به نقش به سزای سرمای دیـررس بهـاره بـر افـت عملکـرد گـردو، کلیـه ژنوتیپ‌هـای بـومی بررسـی شـده در ایـن پـژوهش در درجـه اول بـر اساس دیرگلی و سپس سایر خصوصـیات کیفـی و کمـی میـوه از جملـه انـدازه و رنـگ میـوه و کاغذی بودن پوست چوبی انتخاب شده اند.

نمونه‌های بیماری از درختـان گـردوی اسـتان کهگیلویـه و بویراحمـد، شهرسـتان بویراحمـد جمع‌آوری شدند. به ایـن منظـور، پوسـت رویـی شـانکر تراشـیده شـد و از چـوب زیـرین آن نمونـه‌برداری شـد و در کیسـه‌های جداگانـه در یخـدان بـه آزمایشـگاه منتقـل شـدند. سـپس بـا استفاده از اسـکالپل ضـدعفونی شـده، قطعـاتی از حدفاصل بافـت سـالم و آلـوده بریـده شـده و در هاون استریل حـاوی آب مقطـر اسـتریل کوبیـده شـد. سـپس یـک لـوپ از عصـاره حاصـله روی محـیط کشـت ائـوزین متـیلن بلـو (Eosin methylen blue, EMB) مخطـط شـد. تشـتک‌های پتـری به‌مـدت ۳-۲ روز در دمـای ۲۸ درجـه سـانتی‌گراد نگهـداری و سـپس تـک کلنی‌هـای سـبز متالیـک خالص‌سـازی شـدند و روی محـیط اگـار غـذایی (Nutrient agar) کشـت و بـرای ادامـه کـار نگهـداری شـدند. رنـگ و شـکل کلنی‌هـای در محیط‌هـای ائـوزین متـیلن بلـو، آگـار غـذایی و عصـاره مخمـر- دکسـتروز- کربنـات کلسـیم (Yeast extract-dextrose-$CaCO_3$, YDC) در ۳-۲ روز نگهداری در ۲۸ درجـه سـانتی‌گراد بررسی شد.

بـرای انجـام آزمـون فـوق حساسـیت، ابتـدا سوسپانسـیونی از کشـت سـه روزه بـاکتری در دمـای ۲۸ درجـه سـانتی‌گراد روی محـیط اگـار غذایی تهیـه شـد. کلنی‌هـا در آب مقطـر اسـتریل حـل و توسـط دسـتگاه اسـپکتروفتومتر، جـذب نوری آن در طـول مـوج ۶۰۰ نـانومتر روی یـک تنظیم شد. مقداری از این سوسپانسیون با سـرنگ انسولین به زیر بشره برگ جوان شمعدانی تزریـق و بافـت مـرده شـدن نـواحی تزریـق شـده در طـی ۴۸-۲۴ ساعت بررسی شد.

بـرای انجـام آزمـون اثبـات بیمـاریزایی، بـا اسـتفاده از اسـکالپل اسـتریل زخم‌هـایی در شاخه‌های بریده رقم هارتلی (Hartley) ایجـاد و توسـط سـمپلر ۲۵ میکرولیتـر از سوسپانسـیون باکتریـایی درون هـر زخـم ریختـه شـد. شـاخه‌ها

روی سبدی داخل جعبه مرطوب با درب شفاف در دمای آزمایشگاه نگهداری و رطوبت مورد نیاز با اسپری روزانه آب بر سطح داخلی درب تامین شد. یک هفته پس از مایه‌زنی، پارافیلم‌ها باز و تا ۳۰ روز پس از مایه‌زنی، پیدایش لکه‌های بافت مرده بررسی شد. آب مقطر استریل به‌جای سوسپانسیون باکتریایی با همان روش به‌عنوان شاهد منفی بکار برده شد. شناسایی استرین‌ها توسط آزمایشات فنوتیپی بر اساس روش‌های متداول صورت گرفت (Schaad *et al.*, 2001; Lelliott and Stead, 1987; Bradbury, 1984).

برای تهیه مایه تلقیح، از کشت سه روزه چهار جدایه عامل باکتریایی استفاده شد. سوسپانسیون جدایه‌ها مطابق توضیحات بالا تهیه و حجم مساوی از سوسپانسیون‌ها مخلوط و به کار برده شد. مایه‌زنی در آخر بهار ۱۳۹۴ و در شرایط باغی انجام شد. توسط اسکالپل استریل برش کوچکی در پوست تنه و شاخه نهال‌ها ایجاد و توسط سمپلر، ۲۵ میکرولیتر مایه تلقیح درون محل‌های برش داده شده ریخته شد. سپس روی برش‌ها به مدت یک هفته با پارافیلم بسته شد. آب مقطر استریل با همان روش مایه زنی به‌عنوان شاهد منفی به‌کار برده شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با نه تکرار (سه زخم در سه نهال) انجام شد. طول نکروز یک سال و نیم پس از مایه‌زنی در زمستان ۱۳۹۵ با استفاده از کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد (Kado *et al.*, 1976). قطر تنه/شاخه در محل شانکر نیز توسط کولیس دیجیتال اندازه‌گیری و ارتباط آن با طول شانکر بررسی شد.

تجزیه واریانس داده‌ها بر اساس موازین طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. برای مقایسه میانگین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

شناسایی عامل بیماری

در مجموع، هفت جدایه عامل باکتریایی از نمونه‌های آلوده جداسازی و خالص‌سازی شدند. شکل سلول‌های باکتریایی میله‌ای و معمولاً جفتی، رنگ و شکل کلنی‌ها روی محیط آگار غذایی کرم روشن، گرد و با حاشیه کامل و روی محیط ائوزین متیلن بلو، سبز متالیک بود. این جدایه‌ها در محیط Kings' B رنگیزه فلوروسنت و در محیط لوان (آگار غذایی حاوی ۵ درصد سوکروز)، لوان تولید نکردند.

نتیجه آزمون فوق حساسیت در برگ شمعدانی منفی بود. بر اساس منابع موجود نیز نتایج آزمون فوق حساسیت برای باکتری *Brenneria* sp. جدا شده از گردو، منفی است (Lopez *et al.*,1994; Gonzalez *et al.*, 2001). نتایج آزمون اثبات بیماریزایی نشان داد که در طی یک ماه نگهداری درون جعبه مرطوب، برخی شاخه‌ها پوسیده شدند، اما در برخی دیگر، شانکرهای

سیاه در محل‌های تلقیح آشکار شد. چنین علائمی در شاخه‌های شاهد مایه‌زنی شده با آب مقطر استریل مشاهده نشد.

نتایج آزمون‌های فنوتیپیک بر روی جدایه‌های جمع آوری شده در این تحقیق و پاسخ مورد انتظار از گونه‌های عامل شانکر گردو (*B. nigrifluens* و *B. rubrifaciens*) در جدول ۱ ارائه شده است. در ردیف‌های ۱۶-۱، واکنش جدایه‌های این پژوهش، واکنش‌های مورد انتظار دو گونه *Brenneria* و نتایج گزارش شده توسط یوسفی کوپایی و همکاران (Yousefikopaei *et al*., 2007) و بیوسکا و لوپز (Biosca and Lopez, 2012) آورده شده است که نشان می‌دهد جدایه‌های جمع آوری شده در این تحقیق به جنس *Brenneria* تعلق دارند. در ردیف‌های ۲۲-۱۷ نتایج آزمون‌های افتراقی بین دو گونه *Brenneria* نشان می‌دهد که این جدایه‌ها به‌دلیل توان رشد در ۳۹ درجه سانتی‌گراد، عدم تولید رنگیزه قرمز در محیط عصاره مخمر- کربنات کلسیم، تحمل کلرور سدیم پنج درصد، تولید اوره آز و تولید اسید از قندهای آرابینوز، زیلوز و رافینوز، به گونه *B. nigrifluens* تعلق داشتند.

ارزیابی مقاومت

نتیجه مشاهدات باغی نشان داد که در طی شش ماه پس از مایه زنی، به‌تدریج زخم‌های کوچکی در محل‌های مایه‌زنی باکتری ظاهر و تا زمان داده‌برداری، به آرامی گسترده شدند. اکثر این زخم‌ها خشک و فاقد تراوشات بودند. آن‌ها ظاهری مشابه علائم *B. nigrifluens* و بی‌شباهت به *B. rubrifaciens* نشان دادند (Meyer *et al*., 2007). برادران و قاسمی (Bradaran and Ghasemi, 2004) در بررسی اتیولوژی شانکر گردوی استان کرمان با عامل *B. nigrifluens*، شانکرها را عمیق‌تر از حد انتظار یافتند در حالی‌که شانکرهای ایجاد شده در این پژوهش از عمق چندانی برخوردار نبودند. عمق شانکر سطحی گردو در ایتالیا نیز عمیق‌تر از ایالات متحده گزارش شده است (Loreti *et al*., 2006). زخم‌های حاصل از بیماری به‌تدریج توسعه یافتند و تا انتهای داده برداری در زمستان ۱۳۹۵ طیفی از واکنش‌ها در ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف مشاهده شد.

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که ژنوتیپ‌های گردوی مورد مطالعه از نظر طول شانکر (مجموع طول شانکر در شاخه و تنه) تفاوت بسیار معنی‌دار داشتند (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که، در مجموع شاخه و تنه، طول شانکر در ارقام مختلف متفاوت بود (جدول ۳). بیشترین طول شانکر در رقم هارتلی (Hartley) (میانگین چهار سانتی‌متر) و کم‌ترین آن در رقم شینوا (میانگین ۱/۷۵ سانتی‌متر) دیده شد. رقم لارا (Lara) نسبتاً حساس بود و هیچ رقمی کاملاً مقاوم ارزیابی نشد (جدول۳). نتایج مشاهدات باغی منارد و همکاران (Ménard *et al*., 2004) و لورتی و همکاران (Loreti *et al*., 2006) نیز مبین حساسیت بالای رقم لارا

جدول ۱- نتایج آزمون‌های فنوتیپیک روی جدایه‌های جمع‌آوری شده از درختان گردوی کهگیلویه و بویراحمد و نتایج فنوتیپی قابل انتظار از گونه‌های *Brenneria nigrifluens* و *B. rubrifaciens*

Table 1. Results of phenotypic tests on isolates collected from Kohgiloyeh and Boyrahmad walnut trees and expected phenotypic results from *Brenneria nigrifluens* and *B. rubrifaciens* species

Characteristic	خصوصیت	ایزوله‌های جمع‌آوری شده Collected isolates	*B. nigrifluens* reference	*B. rubrifaciens* reference
Gram reaction	واکنش گرم	-	-	-
O/F	متابولیسم هوازی/بی‌هوازی	+/+	+/+	+/+
Oxidase	اکسیداز	-	-	-
Catalase	کاتالاز	+	+	+
Nitrate reduction	احیای نیترات	-	-	-
Aesculin hydrolysis	هیدرولیز اسکولین	+	+	+
Tween hydrolysis	هیدرولیز توین	-	-	-
Gelatin liquification	ذوب ژلاتین	-	-	-
Casein hydrolysis	هیدرولیز کازئین	-	-	-
Starch hydrolysis	هیدرولیز نشاسته	-	-	-
Lecithinase	لسیتیناز	-	-	-
Indole production	تولید ایندول	-	-	-
Potato soft rot	لهیدگی سیب زمینی	-	-	-
Reducing substances from sucrose	احیای مواد از ساکارز	-	-	-
Arginine dihydrolase	آرجینین دهیدرولاز	-	-	-
Growth at 36 °C	رشد در ۳۶ درجه	+	+	+
Growth at 39 °C	رشد در ۳۹ درجه	+	+	-
Red pink pigments on YDC	رنگدانه صورتی در YDC	-	-	+
Beta galactosidase	بتا گالاکتوزیداز	ND	+	-
Tolerance of 5% NaCl	تحمل به کلرید سدیم ۵٪	+	+	-
Urease	اوره آز	+	+	+/-
Acid production from:	تولید اسید از:			
Raffinose	رافینوز	+	+	-
Xylose	زیلوز	+	+	-

+و-: به ترتیب واکنش مثبت و منفی در بیش از ۹۰ درصد جدایه‌ها.

ND: انجام نشد.

+ and -: Positive and negative reactions in >90% of strains, respectively.
ND: not done.

(Lara) بود. در مشاهدات باغی منارد و همکاران(Ménard *et al*., 2004) رقم چندلر (Chandler) نسبتاً حساس تشخیص داده شد در صورتی که بر اساس نتایج پژوهش حاضر به‌طور نسبی مقاوم بود. شناخت ارقام مقاوم‌تر با توجه به اینکه راه حل قاطعی برای معالجه یا پیشگیری این بیماری در شرایط تحت تنش موجود نیست (Biosca and Lopez, 2012)، می‌تواند گزینه‌ای قابل تامل برای مناطق خشک و شرایط خشکسالی حاکم بر ایران باشد.

در ارتباط با ارزیابی مقاومت ارقام و پایه‌های مختلف گردو به این بیماری منابع زیادی موجود

جدول ۲- تجزیه واریانس برای میانگین طول کل شانکر (طول شانکر در تنه و شاخه) و قطر کل اندام (مجموع قطر تنه و شاخه در محل‌های مایه‌زنی) در ژنوتیپ‌های گردوی

Table 2. Analysis of variance for total canker length (canker length in shoot and trunk) and total organ diameter (diameter of trunk and shoot) in inoculated sites in walnut genotypes

		طول شانکر Canker length		قطر محل مایه زنی Diameter of inoculation sites	
S.O.V.	منبع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات Mean squares	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares
Genotype	نوتیپ	12	5.21**	12	152.56**
Error	خطا	117	0.74	117	24.81
Total	کل	129		129	
CV. (%)	درصد ضریب تغییرات		31.63		24.67

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

**: Significant at the 1% probability level.

جدول ۳- مقایسه میانگین طول کل شانکر (طول شانکر در شاخه و تنه) در ژنوتیپ‌های گردو

Table 3. Mean comparison of total canker length (canker length in shoot and trunk) in walnut genotypes

Genotype	ژنوتیپ	طول شانکر Canker length (cm)	Genotype	ژنوتیپ	طول شانکر Canker length (cm)
Hartley	هارتلی	4.00a	Vina	وینا	2.28de
Lara	لارا	3.72ab	H2-1		2.25de
Jamal	جمال	3.47abc	Serr	سر	2.24de
KZ3		3.17abcd	RDM	روند	2.17de
Pedro	پدرو	2.77bcde	Chandler	چندلر	2.00de
H2-12		2.66cde	Shinova	شینوا	1.75e
88-1		2.64cde			

میانگین‌هایی، در هر ستون، که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

Mean, in each column, followed by at least one letter in common are not significantly different at the 1% probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

نیست. ظاهراً اکثر ارقام تجاری گردو به شانکر سطحی حساس هستند (Ramos, 1998). بر اساس برخی مشاهدات در نهالستان‌ها و باغات، این بیماری بر روی ارقام هارتلی (Hartley)، چندلر (Chandler)، مایت (Mayette) و فرنر (Ferner) شایع‌تر است هر چند ارقام لارا (Lara) و فرانکت (Franquete) نیز آلوده می‌شوند (Ménard *et al.*, 2004). بر اساس مشاهدات لورتی و همکاران (Loreti *et al.*, 2006) سطح مقاومت ارقام مختلف متفاوت و رقم هارتلی (Hartley)حساس‌تر از رقم سر (Serr) بود. در بین گونه‌های مختلف گردو نیز گونه‌های *J. nigra* و *J. hindsii* به‌شدت حساس و

J. mandshurica و *J. sieboldiana* نسبتاً مقاوم بودند.

علی‌رغم وجود تفاوت معنی‌دار در طول شانکر بین ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف، این تفاوت فاحش نبود به‌گونه‌ای که طول شانکر در حساس‌ترین رقم یعنی هارتلی (Hartley)، حداکثر دو برابر مقاوم‌ترین رقم یعنی شینوا (Shinova) بود. این تفاوت نسبتاً پائین می‌تواند ناشی از ماهیت فرصت طلبی باکتری عامل بیماری باشد، چون این باکتری بخشی از میکروفلور طبیعی باغ است که تنها در شرایط تنش به‌خصوص تنش کم آبی، به شکل مهاجم تبدیل می‌شود (Moretti *et al.*, 2007; Saccardi *et al*. 1998; Piccirillo, 2003). محدود ماندن طول شانکر در شرایط مناسب باغ بیماری‌شناسی پژوهشکده درختان معتدله و سردسیری می‌تواند دال بر امکان مهار این بیماری از طریق مدیریت باغ باشد علاوه بر اینکه این بیماری ماهیتی مزمن دارد که گسترش آن به زمان طولانی نیاز دارد.

پس از مایه‌زنی به شاخه و تنه، در هر دو اندام شانکر ایجاد شد بدین معنی که هر دو اندام به آن حساس بودند. بررسی داده‌ها نشان داد که طول شانکر در تنه بیش از شاخه بود (به‌ترتیب ۲/۹۱ و ۱/۹۰ سانتی‌متر). این نتایج با مشاهدات باغی صدق می‌کند چه در شرایط طبیعی، شانکر عمدتاً در تنه و به‌ندرت در شاخه ایجاد می‌شود.

میانگین قطر محل مایه‌زنی در ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت بود (جداول۲ و ۴). بررسی همبستگی این صفات نشان داد که بین قطر اندام و طول شانکر همبستگی مثبت معنی‌دار ($r = ۰/۵۶^{**}$) وجود داشت (جدول ضرایب همبستگی ارائه نشده است). بدین معنی است که هر چه اندام قطورتر باشد، طول شانکر بیشتر بود. این یافته حساسیت بیشتر تنه نسبت به شاخه (احتمالاً به‌دلیل قطر بیشتر) را تائید می‌کند و می‌تواند شیوع بیشتر این بیماری در درختان بالغ باغی نسبت به نهالستان‌ها را نیز توضیح دهد.

با توجه به نتایج حاصله، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که هیچیک از ارقام/ژنوتیپ‌های گردوی بررسی شده در این به بیماری شانکر سطحی مقاوم یا مصون نبودند و به‌خصوص رقم مهم و تجاری هارتلی (Hartley)به این بیماری حساسیت بالایی نشان داد. با توجه محدود ماندن طول زخم در ارقام/ژنوتیپ‌های مختلف، ظاهراً به‌نظر می‌رسد مدیریت مطلوب باغی تاثیر عمده‌ای در مهار این بیماری داشته باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود در مناطق مستعد مانند کرمان و کهگیلویه و بویراحمد، به گردوکاران در ارتباط با تاثیر تغذیه و آبیاری صحیح بر کنترل شانکر سطحی آموزش داده شود. با توجه تاثیر تنش آبی بر شدت این بیماری و شرایط خشکسالی حاکم بر ایران، شناسایی و کاشت ارقام مقاوم نیز می‌تواند در کاهش شدت خسارت آن موثر باشد.

جدول ۴- مقایسه میانگین قطر کل اندام (قطر اندام شاخه + تنه) در محل‌های مایه‌زنی در ژنوتیپ‌های گردو

Table 3. Mean comparison of total organ diameter (diameter of shoot + trunk) in inoculted sites in walnut genotypes

Genotype	ژنوتیپ	قطر (میلی‌متر) Diameter (mm)	Genotype	ژنوتیپ	قطر (میلی‌متر) Diameter (mm)
Lara	لارا	25.88a	Shinova	شینوا	18.74cde
Vina	وینا	24.58ab	Jamal	جمال	18.11cde
Kz3		24.29ab	Chandler	چندلر	16.25def
H2-12		24.08ab	H2-1		15.75def
Hartley	هارتلی	23.16abc	Pedro	پدرو	14.68ef
88-1		21.85abcd	RDM	روند	12.24f
Serr	سر	20.27abcd			

میانگین‌هایی، در هر ستون، که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

Mean, in each column, followed by at least one letter in common are not significantly different at the 1% probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

سپاسگزاری

نگارندگان از مدیریت بخش تحقیقات میوه‌های معتدله سردسیری مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی برای فراهم آوردن امکانات برای اجرای این پژوهش سپاسگزاری می‌کنند.

References

Anomymous. 2005. Iran agricultural statistic database for 2004-2005. Statistic and Data Technology Office, Ministry of Jihad-e- Agriculture, Tehran, Iran.

Anonymous. 2007. Walnut shallow bark canker pathogen. *Brenneria* (=*Erwinia*) *nigrifluens* (Revised 12.07, updated 12/07). http://www.ipm.ucdavis.edu.PMG/r881100611.html.

Anonymous. 2012. FAO statstics database. http://www.fao.org/faostat/en/data/QC.

Baradan, G., and Ghasemi, A. 2004. Aetiology of walnut tree cankers in Kerman province. pp. 385. In: Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, Iran (in Persian).

Biosca, E. G., and Lopez, M. M. 2012. Detection and identification methods and new tests as developed and used in the framework of the COST873 for bacteria pathogenic to stone fruits and nuts. Plant Pathology 94: S1.105-S1.113

Bradbury, J. F. 1984. Genus II. *Xanthomonas* Dowson. pp. 196-210. In: Krieg, N. R., and Holt, J. C. (eds.) Bergy's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 1. Williams and Wilkins Co., Baltimore.

Frutos, D. 2010. Bacterial diseases of walnut and hazelnut and genetic resources. Plant Pathology 92: S1.79-S1.85

Gonzalez, R., Lopez, M. G. L., Biosca, E. G., Lopez, F., Santiago, R., and Lopez, M. M. 2001. First report of bacterial deep bark canker of walnut caused by *Brenneria rubrifaciens* in Europe. Plant Disease 86: 696

Harighi, B. 2006. Phenotypic characteristics of walnut bark canker agent in Kordestan. pp. 319. In: Proceedings of the 17th Iranian Plant Protection Congress, Karaj, Iran (in Persian).

Hassani, D., Haghjoeyan, R., Damyar, S., Soleimani, A., and Atefi, J. 2007. Evaluation of selected Iranian walnut genotypes and foreign cultivars. pp. 286-290. In: Proceedings of the International Conference, Belarus.

Jalili Marandi, R., and Hakimi Rezaee, J. 2003. Hazelnut, Almond and Walnut Culture. Jihad Daneshgahee Publ., West Azarbijan, Urmia, Iran, 204 pp. (in Persian).

Kado, C. I., Moller, W. J., and Ramos, D. E. 1976. Deep bark canker, search for varieties resistant to deep bark canker http://walnutresearch.ucdavis.edu.

Keshavarzi, M. 2013. Walnut tree diseases in Iran, identification and control. Agricultural Research, Education and Extension, Tehran, Iran, 135 pp. (in Persian).

Lelliot, R. A., and Stead, D. E. 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. Blackwell Scientific Publication, Boston, USA. 216 pp.

López, M. M., Marti, R., Morente, C., Orellana, N., Ninot, T., and Aleta, N. 1994. Bacterias fitopatigens indentificadas en nogal en espen. Investigations Agraria, Fuera Serie 2: 307-314.

Loreti, S., Galleli, A., Piccirillo, A., and Belisario, A. 2006. Bacterial bark canker on English walnut. Acta Horticulturae 705: 433-436.

Menard, M., Delort, F., Baudry, A., and Saux, M. 2004. First report of bacterial canker of walnut caused by *Brenneria nigrifluens* in France. Plant Disease 88: 220

Meyer, D., Menard, M., Delort, F., Ligret, F., and Manceau, C. 2007. The causal agent of the vertical oozing canker of walnut is a population within *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* identified by AFLP analysis. Cost Action 873, Bacterial Diseases of Stone Fruits and Nuts. 47 pp.

Moretti, C., and Buonaurio, R. 2010. Immature walnut fruit inoculation for evaluation of *Brenneria nigrifluens* pathogenicity. Phytopatholia Mediterranea 49: 80-83.

Moretti, C., Silvestri, F. M., Rossini, E., Natalini, G., and Buonaurio, R. 2007. A protocol for rapid identification of *Brenneria nigrifluens* among bacteria isolated from bark cankers in Persian walnut plants. Plant Pathology 89: 211-218.

Morone, C., Janse, J. D., and Scortichini, M. 1998. Bark canker of Persian walnut (*Juglans regia*) tree incited by *Erwinia nigrifluens* in Italy. Phytopathology 146: 637-639.

Ogawa, J. M., and English, H. 1991. Diseases of temperate zone tree fruit and nut crops. UCANR Publication. 3345. 464 pp.

Piccirillo, P. 2003. II quadro fitopatologico del noce (*Juglans regia* L.) attraverso le osservazioni dell-ISF di Caserta. Frutticoltura 10: 39-43.

Rahimian, H. 1986. Waknut bacterial canker in Sari. pp. 150. In: Proceedings of the 9th Iranian Plant Protection Congress (in Persian).

Ramos, D. E. 1998. Walnut production manual. UCANR Publication 3373. 320 pp.

Saccardi, A., Bonnetti, V., Melegatti, A., and Cristini, M. 1998. Occurrence of *Erwinia nigrifluens* on English walnut (*Juglans regia*) in the Veneto region (Northern Italy). Plant Pathology 80: 63-65.

Schaad, N. W, Jones, J. B. and Chun, W. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathologenic bacteria. 3rd ed. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA. 373 pp.

Tabatabaee, M., Dehlavi, M., and Ahmadi, A. 1398. Walnut, Hiccori and Pecan. Jihad Daneshgahi Publication. pp. 406 (in Persian).

Wilson, E. E., Starr, M. P., and Berger, J. A. 1957. Bark canker, a bacterial disease of the Persian walnut trees. Phytopathology 47: 669-673.

Yousefikopaei, F., Taghavi, S. M., and Banihashemi, Z. 2004. Distribution and aetiology of walnut bark canker in Fars and Kohgilooyeh and Bourahmad provinces. pp. 387. In: Proceedings of 16th Iranian Plant Protection Congress (in Persian).

Yousefikopaei, F., Taghavi, S. M., and Banihashemi, Z. 2007. Occurrence of shallow bark canker of walnut in Southern provinces of Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences 10: 1507-1512.